

Antistoffer

Klon Selektions Teorien

Hver lymfocyt kan reagere med specielt antigen
Dette fra FØR at have mødt antigenet
"ready-made" response
møder antigen -> antigen-specifik lymfocyt opformerer (klones)

Antigen (Antibody Generator)

Substans i stand til at fremkalde immunrespons

Epitop (Antigen determinant)

Del af antigen, der kombineres med bindingssite på antistof
Kan være mange på hver antigen

Hapten

Lille molekyle, der ikke i sig selv er antigen
Bliver antigen ved binding til større molekyle

Immunodominant determinant

Determinant som er mere antigen end andre
Dominerer respons'et

Polyklonalt

Mange B-lymfocytter, der genkender antigenet

Oligoklonalt

Få B-lymfocytter, der genkender antigenet

Mono

1 B-lymfocyt, der genkender antigenet

Immuniseringsforløb

Primært immun respons

Sker ved 1. udsættelse for antigen
Immun respons sker efter et par dage ->
Stiger hurtigt og eksponentielt -> lavt niveau
-> Falder gradvist igen
Virgin-cells møder antigen 1. gang ->
De stimuleres til at formere sig ->
aktiverede celler (aktive i at lave et respons)
T-celler (celle-medieret respons)
B-celler (antistof sekretion)
(Især IgM ses her)
kort levetid (dage)
hukommelses celler (danner mange = clonal expansion)
er ikke aktive, men kan hurtigt blive det ved
udsættelse for antigen på senere tidspunkt.
Lang levetid (måneder, år)

Sekundært immun respons

Ved følgende udsættelser for antigen
Immun respons kommer hurtigere ->
Meget stærkere respons (bl.a. p.g.a. clonal expansion og ↓)
Hukommelses-cellerne reagerer meget mere på antigen end virgin-cells
B-lymfocytter

Receptor har højere affinitet for antigen
T-lymfocytter
Adhererer stærkere til andre celler
Videregiver extracellulære signaler mere effektivt
-> danner hukommelses & aktive celler
Antigener kan forblive i lymfoide væv i lang tid, og forlænger
hukommelsen

Immunologisk tolerance

Immun systemet kan lære at tolerere antigener

Naturlig

Tolerance for egne antigener

Acquired

Tolerance for fremmede antigener

Ved kontinuerlig tilstedeværelse inden modning af immunsystemet

Opnåelse ved

Clonal deletion

Drab af selv-reaktive lymfocytter

Clonal anergy

Funktionel inaktivering af lymfocytter

Holdes dog stadig i live

Sker især i primære lymfoide organer

Immunoglobuliner

Udelukkende syntetiseret af B-lymfocytter & plasmaceller

Udgør 20% af plasma-protein

Y-formet antistof

Har 2 identiske antigen-binding sites (bivalent)

Hvis antigen har ≥ 3 epitoper, så kan det bindes sammen i netværk

Dette kan så fagocytteres

Består af:

(hvert domæne er på 110 aminosyrer)

(har hver 1 intra-kæde disulfid binding ->)

(er derfor foldet i lignende kompakte domæner)

2 identiske light chains (L)

hver ca. 220 aminosyrer

Variabel region

1 domæne V_L

Konstant region

1 domæne C_L

2 identiske heavy chains (H)

hver ca. 440 el. 550 aminosyrer

Variabel region (N-terminalt)

1 domæne V_H

Konstant region (C-terminalt)

Hængselsregion

3 domæner $C_H 1,2,3$

(μ & ϵ har 4 konstante domæner)

3-Dimensionelt (IgG)

Immunoglobulin foldning

2 –antiparallele –sheets

1 på 3 strenge

1 på 4 strenge

bundet sammen ved disulfid binding

Variable regioner

3 små hypervariable regioner (loops)

5-10 aminosyrer er antigen-bind.sites på hver
de resterende framework regioner (rimeligt konstante)

Kæderne holdes sammen af disulfid-bindinger

Papain spalter antistoffer **over** hængslet ->

2* identiske Fab (Fragment antigen binding)

hver med 1 antigen-bindings site

1* Fc fragment (krystalliseres let, derfor navnet)

Pepsin spalter antistoffer **under** hængslet ->

1* F(ab')₂ fragment

består af 2 F(ab) – fragmenter

inklusiv hængselsregion

kan stadig kryds-forbinde antigener

resten af molekylet nedbrydes (Fc underfragmenter)

Disulfid reducerende reagens ->

2* light chains (udfoldede)

2*heavy chains (udfoldede)

kan ikke binde antigener

5 Klasser af antistoffer (immunoglobuliner)

IgA

α-heavy chain

subclasses

store klasse Ig I sekretioner

spyt

tårer

mælk

respiratorisk

fordøjelses

Den er secerneret

Dimer

J-kæde (se senere)

Yderligere peptidkæde= ”sekretorisk komponent” (SK)

Denne beskytter IgA mod fordøjelse af
proteolytiske enzymer i sekretion

transporteres via sekretoriske epithel celler ->

extracellulær rum ->

binding til speciel transmembran Fc-receptor ->

(receptor indeholder SK + transmembran del)

receptor medieret endocytose ->

transporteret over cytoplasma i vesikler->

secerneret i lumen ved exocytose
SK kløves fra transmembran del

IgD

δ-heavy chain

Virgin B-lymfocytter producerer disse som overfladereceptorer
secernerer sjældent

IgE

ε-heavy chain

binder med MEGET høj affinitet ($K_a = \text{ca. } 10^{10} \text{ L/mol}$)

til specielle Fc receptorer

Mast celler (væv)

Basofile granulocytter (blod)

Virker som receptorer for antigen på cellerne

Antigen binding ->

Sekretion af biologisk aktive aminer (især Histamin)

Skaber dilation og øget permeabilitet i blodkar

Hjælper hvide blodlegemer, Ig til betændelsen

Men skyld i astma, hø feber etc

Secernerer faktorer ->

Tiltrækker eosinofile gran.(parasit-bekæmpelse)

IgG

γ-heavy chain

4 subclasses

$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ & γ_4

Udgør største klasse Ig I blodet (75%)

Produceret i storemængder under sekundært immun respons

Aktiverer komplement-systemet

Med bundet antigen (på Fab)

-> bindes Fc til makrofager & neutrofile

-> binder, fagocyterer og destruerer mikroorg.

(nogle kan ødelægge uden fagocytose)

Eneste Ig, der kan gå fra moder -> foster via placenta

Via Fc receptorer fra moderblod->

receptor medieret endocytose ->

Transporteret igennem cellen i vesikler ->

Exocytose i fosterblod (transcytose)

(kan også gå fra modermælk->barn via mave)

IgM

μ-heavy chain

første klasse Ig, produceret af B-lymfocyt (overfladereceptor)->

bliver til virgin B-cells (kan binde antigen)

Secerneret form

største klasse i det primære antistof respons

pentamer (5 Y-subunits)

d.v.s. 10 antigen binding sites

1 J chain (joining)

(rest fra polymerisering...4 fraspaltes, 1 bliver tilbage)

binding af antigen til pentamer (på Fab region)->

Fc regioner binder til og aktiverer 1. komponent i complement systemet. (biokemisk angreb på mikroorg.)

Monoklonale antistoffer

Myeloma protein

Multiple myeloma (sygdom)

Kræft -> enkelt plasma celle

Bruges til at fremstille store mængder

Hybridomas

Fusion af 1 B-lymfocyt med myeloma celle(ikke-secernerende)

Rekombination

Affinitet

Et antistofs affinitet til en antigen determinant beskriver styrken af bindingen mellem 1 antigen determinant og 1 antigen-bindings site.

Er uafhængig af antallet af bindinger

Affinitets konstantet $K_a = \frac{[AgAb]}{[Ag][Ab]} = \text{ligevægtskonstant}$

Aviditet

Den samlede styrke af et multivalent antistof til et multivalent antigen

Antistof Diversitet

Kombinatorisk diversifikation (Tallene stammer fra mus)

Under modning af B-lymfocyt

Light-chain

C-region

1 C gen segment

V-region

≈300 V gen segmenter

4 J gen segmenter (Joining)

-> $300 \cdot 4 = 1.200$ forskellige light chains

Heavy-chain

C-region

5 C gen segmenter

V-region

≈1000 V gen segmenter

4 J gen segmenter (Joining)

12 D gen segmenter (diversity segment)

-> $1000 \cdot 4 \cdot 12 = 48.000$ forskellige heavy chains

-> $1.200 \cdot 48.000 \approx 5 \cdot 10^7$ forskellige antigen binding-sites

Humane tal

	V	J	C
κ (2)	40	5	1
λ (22)	30	4	7

	V	J	C	D
Heavy (14)	60	6	11	27

Junctional diversification

Hvert gen segment afsluttes af konserverede DNA-sekvenser

Bruges til site-specifik rekombination

->rigtig sammenkædning

Rag-1 & Rag-2 (Recombination Activating Genes)

Udgør lymfocyt-specifikke V(D)J rekombinations system

Ved rekombination her mistes ofte tilfældige nukleotider

Tung kæde gen-segmenter kan påsættes nukleotider

Især øget diversitet i 3. hypervariable region

Omkostning

Læserammen forskydes ofte ->

Ikke-funktionelt gen

Sker ofte i udviklende B-lymfocytter

Somatisk hypermutation

Affinitets modning

Sker i hukommelses B-lymfocytter ved deling

Dette findes sted i follikler i sekundært lymfoidt organ

Punkt mutationer forekommer i V-region(=somat. hypermut.)

Raten er $1 \cdot 10^6$ gange højere end normalt

= 1 mutation / celle generation

Kun få celler vil have større affinitet

-> disse prolifererer ved stimulation

Resten af cellerne -> apoptose

Allel Exclusion

B-lymfocytter er mono-specifikke

-> Kun 1 V_L kæde

-> Kun 1 V_H kæde

B-lymfocytten er diploid (som andre somatiske humane celler)

2*1 Tung kæde

2*2 Lette kæder (κ & λ)

Hver celle må vælge mellem moder og faders let-kæde og tung-kæde "pools"

= Allel eksklusion

Vælger den tung kæde (2 muligheder)

-> rekombination ("råd" til 1 fejl)

-> sendes til overflade med let-kæde surrogat

-> extracellulært signal

-> Valg af let kæde (4 muligheder)

->rekombination af denne ("råd" til 3 fejl)

=færdigt Ig til overflade

Membranbundne/ Opløselige Antistoffer

Kun forskel i C_H kæden, C-terminalt

Membranbundne

Hydrofob anker til membran C-terminalt
Opløselige
Hydrofil C-terminus
Møde med antigen
skift i RNA transkript-processering
membranbundet
langt RNA transkript
ene intron indeholder stop-kodon (til det opløselige)
splejses ud
-> opløseligt
kort RNA transkript

Class Switching (dannelse af forskellige antistoffer)

Vigtig, idet affinitet for antigen bibeholdes i forskellige antistoffer
(kun skift af tung kæde – Fc del)

Naive B-lymfocytters dannelse af IgM & IgD
Alternativ splejsning af langt transkript
Indeholder både C_μ & C_δ

Class Switch Rekombination

Ved modning af aktiveret B-lymfocyt sker irreversibel ændring i DNA
Alle C upstream segmenter for ny C-kæde i DNA slettes
Medieret af en "switch recombinase"